

اثر سینرژیسیم نانو ذره نقره با استرپتومایسین بر روی بروسلا آبورتوس مقاوم به استرپتومایسین

رضا میرنژاد^۱، محمد عرفانی^۲، بابک صادقی^۳، وهاب پیرانفر^{۴*}

^۱مرکز تحقیقات بیولوژی مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی بقیه الله الاعظم (عج)، تهران، ایران؛ ^۲گروه میکروبیولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی

واحد تنکابن، تنکابن، ایران؛ ^۳گروه شیمی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تنکابن، تنکابن، ایران.

تاریخ دریافت: ۹۱/۳/۲۶ اصلاح نهایی: ۹۲/۴/۹ تاریخ پذیرش: ۹۲/۴/۲۵

چکیده:

زمینه و هدف: بروسلا (Brucella) عامل یک بیماری عفونی با درمان سخت است که با گسترش مقاومت دارویی و عود مجدد عفونت، پس از درمان روبروست؛ همچنین اثرات جانبی مصرف آنتی بیوتیک‌هایی که برای درمان به کار می‌روند بسیار بالاست. این مطالعه با هدف طراحی مسیری برای از بین بردن مقاومت دارویی و استفاده از دوز پایین تر آنتی بیوتیک‌ها برای درمان بروسلاز طراحی شده است.

روش بررسی: در این مطالعه تجربی، بعد از سنتز نانو ذرات نقره به روش احیاء نیترات نقره، کشت بروسلا آبورتوس بیماری زا در انسان بر روی مولر هیتون آگار انجام و دیسک گذاری به روش کربی بائر (Kirby-Bauer) همراه با غلظت‌های متفاوت نانو ذره نقره انجام شد. اثر هم‌افزایی با استرپتومایسین، با آغشته کردن دیسک آنتی بیوتیک استرپتومایسین (۱۰ میکروگرم) با بیشترین غلظت نانو ذره که اثر مهارکنندگی نداشت، صورت گرفت.

یافته‌ها: نتایج بررسی اثر نانو ذره نقره بر روی بروسلا آبورتوس مقاوم به استرپتومایسین نشان داد که رقت‌های بالای ۲۵ میلی مول به تنهایی موجب مهار رشد بروسلا آبورتوس می‌شوند. ارزیابی اثر هم‌افزایی نانو ذرات نقره به همراه آنتی بیوتیک استرپتومایسین نشان داد که پلیت‌های حاوی دیسک آنتی بیوتیک استرپتومایسین به همراه نانو ذرات نقره با رقت ۱۲/۵۰ میکرومول سبب ایجاد هاله عدم رشد می‌شود.

نتیجه گیری: به نظر می‌رسد نانو ذرات نقره در کنار آنتی بیوتیک، مقاومت دارویی باکتری را کم کرده و احتمالاً استفاده از نانو ذرات در کنار آنتی بیوتیک‌های رایج، ما را قادر خواهد ساخت تا از غلظت کمتر آنتی بیوتیک‌ها و نانو ذرات استفاده گردد و اثرات سوء آن‌ها کاهش داده شود.

واژه های کلیدی: استرپتومایسین، بروسلا آبورتوس، نانو ذره نقره، هم‌افزایی.

مقدمه:

بروسلوزیس انسانی با توجه به هزینه زیاد، مقاومت دارویی و عوارض جانبی آنتی بیوتیک‌ها، مشکل است. انتشار وسیع عامل این بیماری در کشورهای در حال توسعه نیز از دیگر مشکلات موجود می‌باشد (۴).

از آنتی بیوتیک‌هایی که برای درمان این پاتوژن داخل سلولی استفاده می‌شود، می‌توان به آمپول استرپتومایسین اشاره کرد. این آنتی بیوتیک از دسته آمینو گلیکوزیدها و باکتریوسید می‌باشد. مشکلات درمان با این آنتی بیوتیک شامل سمیت کلیوی، سمیت

بیماری عفونی بروسلوزیس در انسان به شکل تب مالت بروز می‌کند و به وسیله باکتری‌های گرم منفی بی‌هوازی اختیاری از جنس بروسلا ایجاد می‌شود (۱). بروسلوزیس در پستانداران ماده سبب سقط جنین و در پستانداران نر موجب التهاب بیضه می‌شود. بروسلا آبورتوس مسئول بیماری اپیدیمیک در گاو بوده و گاهی به دیگر حیوانات اهلی و همچنین نشخوار کنندگان وحشی نیز انتقال می‌یابد. همچنین عفونت‌های انسانی ناشی از این گونه متداول است (۲،۳). درمان

*نویسنده مسئول: تنکابن، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تنکابن، گروه میکروبیولوژی، تلفن: ۰۹۳۷۱۳۰۷۳۰۰، E-mail: vahab.p@gmail.com

روش بررسی:

در این مطالعه تجربی، باکتریایی بروسلا آبورئوس از نمونه‌های بالینی کشت مثبت بیماران مبتلا به بروسلوزیس ارسال شده به مرکز تحقیقات بیولوژی مولکولی دانشگاه علوم پزشکی بقیه الله الاعظم (عج)، بدست آمد و در محیط بروسلا آگار (مرک آلمان) کشت داده شد.

سنتز نانو ذرات نقره به اندازه ۲-۵۰ نانومتر و خلوص ۹۹ درصد با استفاده از احیاء نیترات نقره در کنار پلی وینیل الکل (PVA) و با بهینه سازی تجربیات گذشته، صورت گرفت (۹، ۱۰). به طور خلاصه، در مرحله اول، ۵ میلی لیتر از (N,N'-Dimethyl formamide= DMF) سه فلاکس ته گرد در ۸۰ درجه سانتی گراد به مدت ۲ ساعت قرار داده شد. سپس ۵ میلی لیتر از محلول DMF به همراه ۰/۲ مولار نیترات نقره به ۵ میلی لیتر محلول DMF به همراه ۰/۵ میلی مولار PVA به طور همزمان تزریق شد. وقتی که اولین قطرات از این دو محلول به یکدیگر اضافه شدند مخلوط حاصل بلافاصله به زرد تغییر رنگ داد. در ادامه محلول به تدریج کدرتر شد و با اتمام تزریق در حدود ۱۵ دقیقه بعد، مخلوط به رنگ خاکستری نانو ذرات نقره در آمد. واکنش در ۸۰ درجه سانتی گراد، طی ۱۶ ساعت ادامه پیدا کرد. در انتها فاز رویی حذف شده و رسوب خاکستری برای تفرق اشعه ایکس و مشاهده زیر میکروسکوپ الکترونی SEM فرستاده شد (۱۱، ۱۲).

الگوی تفرق اشعه X در PT 3003 Seisert Argon با فیلتریکل XD-3a CuKaradiations ثبت شد و طیف UV با دستگاه UV-visible Hitachi spectrophotometer model U-2101 PC اندازه گیری شد. تصاویر میکروسکوپ الکترونی SEM نیز با دستگاه LEO 440i گرفته شده است. نمونه‌ها با آب مقطر شستشو داده شده و یک پوشش نازک طلا توسط روش تبخیر در خلاء برای فیلم دستگاه آماده شد. به منظور بررسی مقاومت باکتری بروسلا آبورئوس مقاوم نسبت به آنتی‌بیوتیک استرپتومایسین، نمونه‌های بالینی کشت مثبت بروسلا آبورئوس بر روی محیط

گوشی و آسیب به بخش شنوایی بیمار و همینطور فلج کنندگی عضلاتش است. این دارو گرچه ساختاری هیدروفیل دارد، اما از جفت عبور کرده و در مبتلایانی که حامله هستند نمی‌تواند با دوز استانداردش مصرف شود (۵). همچنین عود مجدد عفونت پس از درمان نیز گزارش شده است (۶). به خاطر این موانع، محققین در صدد یافتن راهکار درمانی مناسب تری در ارتباط با این بیماری می‌باشند. از این رو نانو مواد که هر روزه کارکردهای گسترده‌تری پیدا می‌کنند و در بخش‌های گوناگون زندگی ما راه خود را باز نموده‌اند، می‌توانند به عنوان راه حل، معرفی شوند.

نانو فناوری با تولید محصولات متنوع در بخش‌های زیست شناسی و پزشکی کاربرد فراوانی دارد. این مواد با سرعت زیادی به سمت پیشبرد تولیدات صنعتی به خصوص تولید داروهای نسل جدید در حرکت می‌باشند. خواص ضد میکروبی نانو ذرات نقره بر علیه طیف وسیعی از باکتری‌ها اثبات شده است. احتمال می‌رود یون‌های نقره باعث آسیب به غشاء سلولی و ماده ژنتیکی باکتری شوند (۷). این ذرات که استفاده از آن‌ها بر علیه عفونت‌ها پیشرفت روز افزونی دارد، اندازه ای بین ۱-۱۰۰ نانومتر دارند (۸، ۷). سنتز نانو ذره نقره در این ابعاد به روش‌های گوناگونی میسر است که با بهره‌گیری از تجربیات گذشته نویسندگان مقاله، روش احیاء نیترات نقره با پلی وینیل الکل (PVA) مورد استفاده قرار گرفته است. با توجه به خواص ضد میکروبی نانو ذرات نقره و آنتی‌بیوتیک استرپتومایسین، بررسی اثر نانو ذره نقره بر روی باکتری عامل بروسلوزیس و همین طور ارزیابی اثر هم افزایی این ماده بر روی بروسلا آبورئوس مقاوم به استرپتومایسین در شرایط آزمایشگاهی مفید واقع شده و برای ارائه مسیر درمانی نوین جهت مقابله با بروسلوزیس کاربردی می‌باشد. این مطالعه با هدف پیدا کردن راهکاری برای ارزیابی مقاومت دارویی و استفاده از دوز پایین‌تر آنتی‌بیوتیک‌ها برای درمان بروسلوز طراحی شده است.

کشت مولر هیتون آگار (مرک، آلمان) کشت داده شدند. دیسک گزاری با تکنیک کربی بائر صورت گرفت. ۴۸ ساعت انکوباسیون در انکوباتور با دمای ۳۷ درجه سانتی گراد و در حضور ۵ درصد دی اکسید کربن (شرایط نیمه هوازی) انجام شد و پس از خواندن قطر هاله عدم رشد، یک نمونه بالینی که به استرپتومایسین مقاوم بود در این پژوهش مورد ارزیابی قرار گرفت.

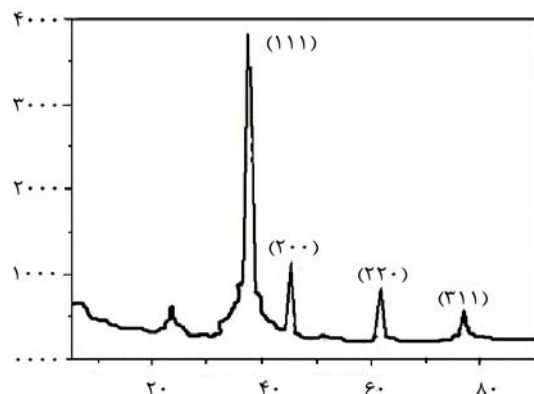
جهت بررسی اثر نانو ذرات نقره بر روی روند رشد باکتری بروسلا آبورتوس مقاوم به استرپتومایسین، دیسک‌های بلنک (blank) آغشته به سریال رقت ۰/۰، ۶/۲۵، ۱۲/۵۰، ۲۵، ۵۰ میلی مول از نانو ذره نقره شدند. سپس باکتری بر روی محیط کشت مولر هیتون آگار کشت داده شد و دیسک‌های آغشته به نانو ذره بر روی آن قرار گرفتند. پلیت‌های کشت برای مدت ۲۴ ساعت در ۵ درصد گاز کربنیک و ۳۷ درجه سانتی گراد گرم خانه گذاری شدند. همچنین برای بررسی رشد بروسلا در مجاورت نانو ذرات سنتز شده، ۵ میلی لیتر از بروسلا آگار در لوله‌های آزمایش ریخته شد. به اندازه یک لوپ استاندارد، یک مک فارلند باکتری به آن‌ها اضافه شد و در نهایت با اضافه کردن سریال رقت ۰/۰، ۶/۲۵، ۱۲/۵۰، ۲۵، ۵۰ میلی مول به لوله‌های آزمایش، در انکوباتور شیکر دار با دور ۶۰۰۰ دور در دقیقه با دمای ۳۷ درجه سانتی گراد، نمونه‌ها گرم خانه گذاری شدند.

برای ارزیابی اثر سینرژسم نانو ذرات نقره به همراه آنتی‌بیوتیک استرپتومایسین با روش دیسک دیفیوژن، ۶ دیسک آنتی‌بیوتیک استرپتومایسین (۱۰ میکروگرم) با ۱۲/۵۰ میلی مول از نانو ذرات نقره آغشته شدند. باکتری بر روی محیط مولر هیتون آگار (مرک، آلمان) در شرایط استاندارد کشت و در نهایت قطر هاله عدم رشد محاسبه شد. دیسک‌های آنتی‌بیوتیک استاندارد از شرکت مست (لیورپول، انگلیس) خریداری شد. تمامی مراحل فوق به منظور کاهش خطای آزمایش ۳ بار تکرار گردید.

یافته‌ها:

پیک‌های مورد مشاهده در الگوی تفرق اشعه ایکس (XRD) را می‌توان دلیلی برای ساختار مکعبی نانو ذرات تولیدی در نظر گرفت. قله‌های اولیه این نتایج نشان دهنده ساختار چند بلوری (Polycrystalline) و قله‌های ثانویه نشان دهنده فرم نانو کامپوزیتی می باشند (تصویر شماره ۱).

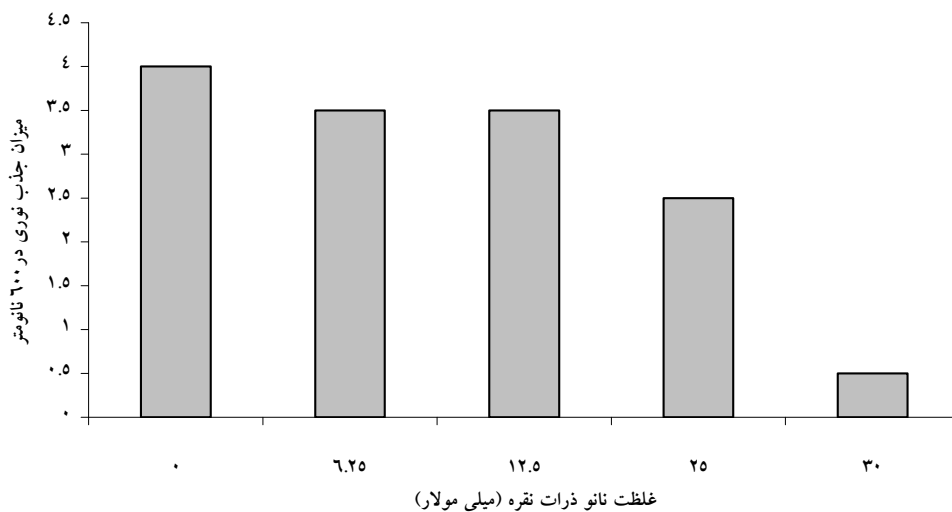
مورفولوژی سطح بدست آمده در تصاویر SEM، غلظت بالای نانو نقره را در این روش تأیید می‌کند و شکل‌های موجود، جهت گیری تصادفی نانو ذرات در نمونه را به وضوح نشان می‌دهند (تصویر شماره ۲).



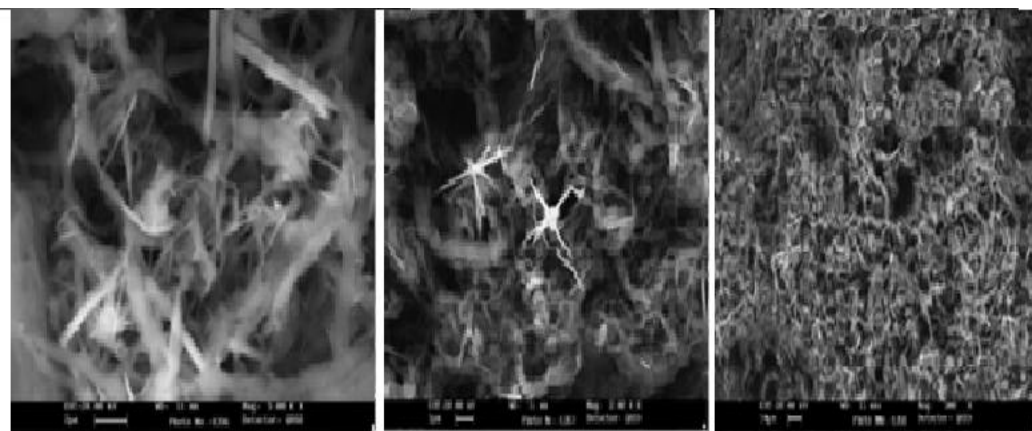
تصویر شماره ۱: الگوی پراش پرتو ایکس (XRD) نانو ذرات نقره پلی وینیل الکل (Ag/PVA): قله‌های اولیه نشان دهنده ساختار چند بلوری (Polycrystalline) و قله‌های ثانویه نشان دهنده فرم کامپوزیتی نانوذره فلزی نقره می باشند.

رقت‌های ۱۲/۵۰ و ۶/۲۵ میلی مول تأثیری در مهار رشد باکتری نداشتند. نتایج هم جواری نانو ذرات در محیط کشت بروسلا براث برای رشد باکتری بروسلا مقاوم به استرپتومایسین نیز این موضوع را تأیید کردند (نمودار شماره ۱).

نتایج بررسی اثر نانو ذره نقره بر روی بروسلا آبورتوس مقاوم به استرپتومایسین نشان داد که رقت‌های بالای ۱۲/۵۰ میلی مول به تنهایی موجب مهار رشد بروسلا آبورتوس شدند. رقت‌های ۲۵ و ۵۰ میلی مول اثر ضد باکتریایی بسیار خوبی را با ایجاد هاله عدم رشد، بیشتر از ۱۲ میلی متر، از خود نشان دادند در حالی که



نمودار شماره ۱: مقایسه رشد بروسلا مقاوم به استرپتومایسین در غلظت‌های متفاوت نانو ذرات نقره سنتز شده در محیط بروسلا آگار.



تصویر شماره ۲: تصاویر میکروسکوپ SEM از نانو ذرات نقره: توزیع بالای نانو ذرات نقره و جهت گیری تصادفی آن‌ها به وضوح نشان داده شده است.

ارزیابی اثر سینرژیسیم نانو ذرات نقره به همراه آنتی‌بیوتیک استرپتومایسین با روش دیسک دیفیوژن، افزایش قابل توجه اثر ضد باکتریایی نسبت به اثر منفرد آنتی‌بیوتیک را نشان داد. پلیت های حاوی دیسک آنتی‌بیوتیک استرپتومایسین فاقد نانو ذرات نقره بدون ایجاد هاله عدم رشد باقی ماندند، ولی در مقابل پلیت های حاوی دیسک آنتی‌بیوتیک استرپتومایسین به همراه نانو ذرات نقره با رقت ۱۲/۵۰ میلی مول سبب ایجاد هاله عدم رشد مطابق با CLSI شدند. در عین حال رقت ۶/۲۵ میلی مول به همراه آنتی‌بیوتیک استرپتومایسین در ایجاد هاله عدم رشد ناموفق بود. این یافته‌ها نشان داد نانو ذرات نقره می توانند مکانیسم مقاومت در برابر استرپتومایسین را از بین ببرند.

بحث:

امروزه درمان بیماری‌های عفونی از جمله بیماری تب مالت از اهمیت خاصی برخوردار است، به طوری که درمان این بیماری جزء اولویت‌های درمانی در سازمان بهداشتی در تمام دنیا قرار دارد. افزایش مقاومت به آنتی‌بیوتیک ها و اثرات جانبی استفاده از آنتی بیوتیک‌ها می‌تواند از محدودیت‌های درمان این بیماری باشد (۱۳، ۱۴).

تاکنون اثر سینرژیسیم نانو ذرات نقره به همراه آنتی‌بیوتیک به صورت گسترده مورد مطالعه واقع نشده است، اما در پژوهش پیش رو برای اولین بار علاوه بر بررسی اثر نانو ذره نقره بر روی بروسلا آبورتوس، اثر سینرژیسیم نانو ذرات نقره به همراه آنتی‌بیوتیک استرپتومایسین مورد بررسی قرار گرفت. با توجه به نتایج ملاحظه شد که با اضافه شدن نانو ذرات نقره، قطر هاله عدم رشد باکتری مقاوم به استرپتومایسین افزایش می‌یابد. این امر نشان دهنده فعالیت ضد باکتریایی بسیار خوب نانو ذرات نقره به همراه آنتی‌بیوتیک استرپتومایسین بر علیه باکتری بروسلا آبورتوس مقاوم به استرپتومایسین می‌باشد. غلظت نانو ذره مورد استفاده در هم افزایشی به اندازه‌ای بوده است که به تنهایی اثر مهارکنندگی بر

روی رشد باکتری بروسلا آبورتوس نداشته باشد. همین طور آنتی‌بیوتیک مورد استفاده برای این نمونه بالینی، قادر به جلوگیری از رشد نبوده و باکتری به آن مقاومت نشان داده است. پیش بینی می‌شود که با توجه به اختلالی که نانو ذرات در دیواره سلولی و غشاء سیتوپلاسمی باکتری ایجاد می‌کند، آنتی‌بیوتیک استرپتومایسین که پیش از این توانایی ورود به باکتری مقاوم را نداشت، فرصت یافته است که وارد سلول شده و اثرات میکروب کشی خود را در سلول اعمال کند.

نتایج نشان داد که نانو ذرات نقره در غلظت پایین، رشد باکتری بروسلا آبورتوس را مهار می‌کند و همچنین در غلظت‌های بسیار کمتر می‌تواند همراه با آنتی‌بیوتیک استفاده شوند. Kim و همکاران نیز اثر نانو ذرات نقره را بر علیه باکتری‌های /استافیلوکوکوس اورئوس، اشرشیاکلی و مخمر مورد بررسی قرار داده بودند (۸). که هر دو مطالعه اثر ضد میکروبی نانو ذره نقره مشخص را نشان داد.

مطالعه ما از شکستن مکانیسم مقاومت نسبت به آنتی‌بیوتیک اطلاعاتی نمی‌دهد، ولی پیشنهاد می‌کند با توجه به اثبات اثر ضد باکتری نانو ذره نقره علیه این باکتری و همین طور استفاده از رقت‌های پایین تر همراه با آنتی‌بیوتیک به مکانیسم اثر آن پرداخته شود. هرچه که غلظت نانو ذرات نقره مورد استفاده کمتر شود، قطعاً از خاصیت سمی و مخرب آن‌ها کاسته خواهد شد؛ لذا استفاده از آنتی بیوتیک‌ها در کنار نانو ذرات می‌تواند راهکاری برای استفاده بهینه از هر دو عامل درمانی و کاهش سمیت هر دو ماده استفاده شده بر اثر استفاده از دوز پایین تر مواد باشد. در این رابطه برخی مطالعات با بررسی اثرات ضد باکتریایی نانو ذرات نقره بر علیه باکتری‌هایی با مقاومت‌های دارویی زیاد (باکتری سودوموناس آئروجنوزا، اشرشیاکلی مقاوم به آمپی‌سیلین، استرپتوکوکوس پایوژنز مقاوم به اریترومایسین)، اثر باکتریواستاتیک را به واسطه نانو ذرات نقره نشان داده اند (۹). در ایران بررسی اثر نانو ذرات نقره بر روی فعالیت ضد میکروبی آنتی‌بیوتیک های مختلف در مقابل اشرشیاکلی و

می‌رسد نانو ذرات نقره در کنار آنتی‌بیوتیک‌ها، مقاومت دارویی باکتری را نیز کمتر کرده و از بین می‌برند و در نهایت استفاده از نانو ذرات در کنار آنتی‌بیوتیک‌های رایج، ما را قادر خواهد کرد تا از غلظت بسیار کمتر آنتی‌بیوتیک‌ها استفاده کنیم و اثرات سوء آنها را کاهش دهیم.

تشکر و قدردانی:

این مطالعه توسط مرکز بیولوژی مولکولی دانشگاه علوم پزشکی بقیه الله اعظم (عج) به شماره گرنت BMSU/MBRC-90-8 مورد حمایت قرار گرفته است؛ از تمامی عزیزانی که ما را در انجام این مهم، حمایت کرده اند نهایت تشکر و قدردانی به عمل می‌آید.

استافیلوکوکوس اورئوس، افزایش فعالیت ضد باکتریایی آنتی‌بیوتیک‌های پنی‌سیلین جی، آموکسی سیلین، اریترومایسین، کلیندامایسین و ونکومایسین به وسیله نانو ذرات نقره را نشان داده است (۱۰). همچنین *Ruparella* و همکاران در سال ۲۰۰۸ به ارزیابی اثر ضد میکروبی نانو ذرات نقره و مس بر سویه‌های مختلف باکتریایی پرداختند؛ آنها مشاهده کردند که گوناگونی سویه‌های باکتریایی اثر ناچیزی در مقدار MIC و MBC دارد و نیز مقدار هاله عدم رشدشان تقریباً یکسان است (۱۵).

نتیجه گیری:

نتایج این مطالعه نشان داد که نانو ذرات نقره به تنهایی رشد این باکتری را کنترل کرده و همچنین به نظر

منابع:

1. Covert J, Eskra L, Splitter G. Isolation of *Brucella abortus* total RNA from B. abortus-infected murine RAW macrophages. *J Microbiol Meth.* 2005 Mar; 60(3): 383-93.
2. Erdogan S, Celik S, Aslantas O, Kontas T, Ocak S. Elevated cAMP levels reverse *Brucella melitensis*-induced lipid peroxidation and stimulate IL-10 transcription in rats. *Res Vet Sci.* 2007 Apr; 82(2): 181-6.
3. Skendros P, Pappas G, Boura P. Cell-mediated immunity in human brucellosis. *Microbes Infect.* 2011 Feb; 13(2): 134-42.
4. Avigegan M. Skin traction: A new idea for pain of Brucellosis sacroileitis. *J Shahrekord Univ Med Sci.* 2003; 5(2): 27-34.
5. Sadeghi B, Sadjadi MAS, Pourahmad A. Effects of protective agents (PVA & PVP) on the formation of silver nanoparticles". *Int J Nanosci and Nanotech.* 2008; 4(1): 3-11.
6. Marambio-Jones C, Hoek E. A review of the antibacterial effects of silver nanomaterial's and potential implications for human health and the environment. *J Nanopart Res.* 2010; 12(5): 1531-51.
7. Ravanel N, Gustin B, Maurin M. In vitro selection of fluoroquinolone resistance in *Brucella melitensis*. *Int J Antimicrob Agents.* 2009 Jul; 34(1): 76-81.
8. Kim JS, Kuk E, Yu KN, Kim JH, Park SJ, Lee HJ, et al. Antimicrobial effects of silver nanoparticles. *Nanomed.* 2007 Mar; 3(1): 95-101.
9. Lara HH, Ayala-Núñez NV, Ixtapan Turrent LDC, Padilla CR. Bactericidal effect of silver nanoparticles against multidrug-resistant bacteria. *World J Microb Biot.* 2010; 26(4): 615-21.
10. Shahverdi AR, Fakhimi A, Shahverdi HR, Minaian S. Synthesis and effect of silver nanoparticles on the antibacterial activity of different antibiotics against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. *Nanomedicine.* 2007 Jun; 3(2): 168-71.

11. Sadeghi B, Garmaroudi FS, Hashemi M, Nezhad HR, Nasrollahi A, Ardalan S, et al. Comparison of the anti-bacterial activity on the nanosilver shapes: Nanoparticles, nanorods and nanoplates. *Adv Powder Technol.* 2012; 23(1): 22-26.
12. Sadeghi B, Sadjadi MAS, Vahdati RAR. Nanoplates controlled synthesis and catalytic activities of silver nanocrystals. *Superlattice Microst.* 2009 Des; 46(6): 858-63.
13. Sadjadi MAS, Sadeghi B, Meskinfam M, Zare K, Azizian J. Synthesis and characterization of Ag/PVA nanorods by chemical reduction method. *Physica E.* 2008; 40(10): 3183-6.
14. Kilic S, Dizbay M, Hizel K, Arman D. In vitro synergistic activity of antibiotic combinations against *Brucella melitensis* using E-test methodology. *Braz J Microbiol.* 2008 Apr; 39(2): 233-7.
15. Ruparelia JP, Chatterjee AK, Duttagupta SP, Mukherji S. Strain specificity in antimicrobial activity of silver and copper nanoparticles. *Acta Biomaterialia.* 2008 May; 4(3): 707-16.

Synergistic effect of silver nanoparticles with streptomycin on the streptomycin-resistant *Brucella abortus*

Mirnejad R (PhD)¹, Erfani M (MSc)², Sadeghi B (PhD)³, Piranfar V (MSc)^{1, 2*}

¹Molecular Biology Research Center, Baqiyatallah University of Medical Sciences, Tehran, Iran; ²Microbiology Dept., Islamic Azad university of Tonekabon, Tonekabon, Iran;

³Chemistry Dept., Islamic Azad University of Tonekabon, Tonekabon, Iran.

Received: 15/June/2012 Revised: 30/June/2013 Accepted: 16/July/2013

Background and aims: *Brucella* can be cured hardly and usually encounters with resistance to drug and further recurrence of infection. Side effects of antibiotics that are used to treat are very high. This study aimed to design a method to eliminate drug resistance through using low dose of antibiotics for treatment of brucellosis.

Methods: In this experimental study, silver nanorods were synthesized by reduction of silver nitrate and then *Brucella abortus* was cultured on Hinton Mueller agar. The discs were treated by Kirby-Bauer method with different concentrations of silver nanoparticles. Synergistic effect with streptomycin was also done by imbuing the streptomycin disk (10µg) with highest concentration of Nano particle that had not inhibitory effect.

Results: Investigation the effect of silver nanoparticles on streptomycin-resistant *Brucella abortus* showed that dilutions above 25 mM were able to inhibit the *Brucella abortus* growth. Evaluation of synergistic effect of silver nanoparticles with streptomycin showed that those plates containing streptomycin disks with dilution of 12.50 mM caused inhibition zone consistent with CLSI.

Conclusion: It seems that silver nanoparticles beside antibiotics, destroy bacteria drug-resistant. Using nanoparticles beside common antibiotics may enable us to use very low concentrations of antibiotics and nanoparticles to reduce their adverse effects.

Keywords: *Brucella abortus*, Streptomycin, Silver nanoparticles, Synergistic effect.

Cite this article as: Mirnejad R, Erfani M, Sadeghi B, Piranfar V. Synergistic effect of silver nanoparticles with streptomycin on the streptomycin-resistant *Brucella abortus*. J Shahrekord Univ Med Sci. 2013 Dec, Jan; 15(5): 72-79.

***Corresponding author:**

Microbiology Dept., Tonekabon branch, Islamic Azad university of Tonekabon, Tonekabon, Iran.
Tel: 00989371307300, E-mail: vahab.p@gmail.com